
This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

REC'D 12 APR 1999

WIPO

PCT

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



Bescheinigung

EJU

EP 99 / 00524

Die BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH in Ingelheim/
Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Vakzine"

am 30. Januar 1998 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wieder-
gabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig das Symbol
A 61 K 39/00 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 23. Oktober 1998
Der Präsident des Deutschen Patentamts

Im Auftrag

Aktenzeichen: 198 03 453.9

Agurks

Case 14/043 DI Fa/dc

5

BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH

10 55216 Ingelheim am Rhein (BRD)

Vakzine

66-10-12 14

M 27.01.99

2

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der Vakzinen.

Die immunogene Wirkung von traditionellen Vakzinen
5 beruht zumeist auf abgetöteten oder abgeschwächten Krankheitserregern. In den traditionellen Vakzinen wirken die Verunreinigungen der Vakzine selbst oder andere Komponenten von Organismen als Adjuvantien, die die immunogene Wirkung des eigentlichen Antigens
10 verstärken und/oder verlängern. Z.B. enthält der Diphtherie-Tetanus-Keuchhusten-Impfstoff zwei potente, von der Ganzzell-Keuchhusten-Vakzine stammende Adjuvantien (LPS = Lipopolysaccharid sowie PT = Pertussistoxin); ebenso haben die Ganzzell-Typhus- und
15 Choleraimpfstoffe potente Adjuvantien (LPS sowie Choleratoxin); die BCG-Vakzine (Bacillus Calmette Guerin) hat starke nicht-spezifische immunstimulatorische Wirkungen.

Im Gegensatz zu den komplexen traditionellen
20 Impfstoffen enthalten die modernen Vakzinen synthetische, rekombinante oder hochgereinigte Antigene in Form von Proteinen oder Peptiden. Diese Vakzinen gelten als sicherer, weisen jedoch im allgemeinen den Nachteil geringerer Immunogenität auf. Um diesen
25 Nachteil zu kompensieren, werden den Vakzinen Adjuvantien beigegeben, um die spezifische Immunantwort auf Antigene zu verstärken und verlängern. Einige Adjuvantien haben die Eigenschaft, die T-Zellproliferation und die zelluläre Immunantwort zu
30 verstärken.

05.10.22 14

Die meisten der bisher verwendeten Adjuvantien weisen jedoch Nebeneffekte auf, auch erfüllen diese Adjuvantien nicht die Anforderungen, die an die Sicherheit von Adjuvantien gestellt werden, wie

5 Stabilität im Hinblick auf Adjuvanswirkung, minimale Toxizität ohne Wechselwirkung mit dem Antigen, ferner Abbaufähigkeit im Organismus sowie Fehlen einer eigenen immunogen Wirkung.

Eine Übersicht von gängigen Adjuvantien, die bisher für

10 Vakzinen in Betracht gezogen wurden, wird von Vogel, 1995, und von Gupta und Siber, 1995, gegeben. Dazu zählen: anorganische Adjuvantien in Gelform (Aluminiumhydroxid/Aluminiumphosphat, Calciumphosphat); bakterielle Adjuvantien, wie Monophosphoryllipid A und

15 Muramylpeptide, teilchenförmige Adjuvantien, wie die sog. ISCOMS („immunostimulatory complexes“), Liposomen und bioabbaubare Mikrosphären, Adjuvantien auf der Grundlage von Ölemulsionen und Emulgatoren, wie Freund's Adjuvans oder IFA („Incomplete Freund's

20 Adjuvans“), Saponine (wie QS-21), Squalen; synthetische Adjuvantien, wie nicht-ionische Block-Copolymere, Muramylpeptidanalogue, synthetisches Lipid A, synthetische Polynukleotide und polykationische Adjuvantien, wie Polyarginin oder Polylysin

25 (WO 97/30721).

Die Wahl eines Adjuvans stellt in der Regel einen Kompromiß dar, der das Ergebnis einer Abwägung zwischen Toxizität und Adjuvanswirkung der jeweiligen Substanz ist.

M 27.01.99

Bei Vakzineformulierungen wurde bisher im allgemeinen Bedacht auf Isotonizität genommen, die gängigen Vakzinformulierungen liegen üblicherweise in einer Salzkonzentration vor, die etwa 150 mM NaCl (ca. 5 300 mosmol/l) entspricht. Gängige Pufferformulierungen sind PBS und HBS (Phosphat-gepufferte bzw. HEPES-gepufferte Salzlösung); z.B. wurde für eine ISCOM-Vakzine PBS pH 7.4 vorgeschlagen (Barr und Mitchell, 1996).

10 Der vorliegenden Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, eine Vakzineformulierung bereitzustellen, die die Wirkung von Vakzinen auf der Grundlage von Antigenen in Form von Peptiden oder Proteinen verstärkt.

Es wurde überraschend festgestellt, daß die immunogene 15 Wirkung einer adjuvanshaltigen Vakzine auf Peptidbasis gesteigert wird, wenn die Vakzineformulierung eine niedrige Salzionenkonzentration aufweist bzw. frei von Salzen ist.

Die Erfindung betrifft somit eine Vakzine, enthaltend 20 ein oder mehrere synthetische oder hochgereinigte natürliche Peptide oder Proteine als Antigen(e) sowie ein oder mehrere Adjuvantien. Die Vakzine ist dadurch gekennzeichnet, daß sie als Lösung oder Emulsion vorliegt, die frei von anorganischen Salzionen ist bzw. 25 eine niedrige Salzionenkonzentration aufweist.

Im Zusammenhang mit der erfindungsgemäßen Vakzine wird unter „niedrige Salzionenkonzentration“ eine Konzentration verstanden, die gleich oder niedriger ist als ca. 50% der Salzkonzentration einer isotonischen 30 Lösung, was etwa ca. 75 mM Kochsalzlösung entspricht.

85.10.27 M

M 27.01.99

5

Bei der Berechnung der Ionenkonzentration ist zu berücksichtigen, daß im Fall der Verwendung von Peptid- bzw. Proteinantigenen, die als solche eine Ladung aufweisen, diese Ladung nicht in Rechnung gestellt wird.

Bevorzugt ist die Vakzine im wesentlichen frei von Natrium- und Chloridionen, besonders bevorzugt ist sie im wesentlichen frei von sämtlichen anorganischen Salzionen („im wesentlichen frei“ bedeutet, daß der Vakzine keine Salze zugesetzt wurden, daß jedoch gegebenenfalls von Reagentien stammende Verunreinigungen oder Spuren von Ionen enthalten sein können).

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Vakzine eine oder mehrere wasserlösliche bzw. wasseremulgierbare Substanzen, die die Fähigkeit haben, die Vakzine isotonisch zu machen und deren immunogene Wirkung zu verstärken.

Diese Substanzen werden im folgenden als „isotonisch machende Substanzen“ bezeichnet. Isotonisch machende Substanzen haben aufgrund ihrer Molekülgröße und molekularen Struktur die Eigenschaft, den physiologischen osmotischen Druck erzeugen zu können.

Bevorzugt sind die isotonisch machenden Substanzen ausgewählt aus der Gruppe der Kohlenhydrate (Zucker, Zuckeralkohole, Oligosaccharide, Polysaccharide), mehrwertige Alkohole, Aminosäuren oder Lipide.

Bevorzugt ist die isotonisch machende Substanz ein Zucker, insbesondere ein Mono- oder Disaccharid wie

PATENT

M 27.01.99

6

Maltose, Fruktose, Galaktose oder Saccharose, oder ein Zuckeralkohol, wie Sorbit oder Mannit.

Als Aminosäuren kommen können isotonische, salzfreie Aminosäurelösungen, wie sie z.B. in der parenteralen Ernährung verwendet werden, in Betracht. Derartige Lösungen sind kommerziell erhältlich (z.B. von Leopold, Graz, Österreich); erforderlichenfalls können diese, falls sie Salzionen enthalten, entsalzt werden. Alternativ kommen auch isotonische, salzfreie Lösungen, die einzelne, bevorzugt wasserlösliche, Aminosäuren enthalten, in Frage.

Als Lipide kommen insbesondere isotonische, salzfreie Fettemulsionen in Betracht, wie sie z.B. in der parenteralen Ernährung verwendet werden. Derartige Emulsion sind kommerziell erhältlich (z.B. von Leopold, Graz, Österreich); erforderlichenfalls können diese, falls sie Salzionen enthalten, entsalzt werden. Es kommen auch langkettige Kohlenwasserstoffe in Frage (z.B. Paraffinöle), ferner höhere Fettsäuren wie Linolsäure, Linolensäure oder Palmitinsäure, Fettsäureester wie Triglyzeride.

Die isotonisch machende Substanz liegt, je noch Molekulargewicht, bevorzugt in einer Konzentration vor, so daß die resultierende Lösung isotonisch oder leicht hypotonisch ist.

Bevorzugte Zucker- bzw. Zuckeralkoholkonzentrationen liegen im Bereich von ca. 200 - 400 mM, insbesondere im Bereich von 250 - 300 mM. Die Osmolarität der Lösung beträgt zweckmäßig zwischen 200 - 400 mosmol/l.

05.10.23 M

Aminosäurelösungen sollten bevorzugt eine Osmolarität zwischen 200 - 400 mosmol/l aufweisen, können aber auch stark hypotonisch sein.

Lipidemulsionen weisen ebenfalls bevorzugt eine
5 Osmolarität zwischen 200 - 400 mosmol/l auf, können aber auch stark hypotonisch sein.

Zusätzlich zur isotonisch machenden Substanz enthält die Lösung, in der die erfindungsgemäße Vakzine vorliegt, gegebenenfalls eine Puffersubstanz. Dafür
10 kommen in erster Linie HEPES (N-[2-Hydroxyethyl] piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]), oder TRIS (Tris[hydroxymethyl]aminomethane) in Betracht. Eine Puffersubstanz kann erforderlich sein, um die Vakzine auf einen physiologischen pH-Wert einzustellen, wenn
15 die primäre Lösung vom physiologischen Wert abweicht.

Bezüglich der Peptid- bzw. Proteinantigene unterliegt die erfindungsgemäße Vakzine keinerlei Beschränkungen. Bei den Antigenen kann es sich um natürlich vorkommende immunogene Proteine, z.B von viralen oder bakteriellen
20 Erregern stammende Proteine bzw. deren Fragmente oder zelluläre Abbauprodukte in Form von Peptiden handeln; oder um Tumorantigene bzw. Fragmente davon. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Antigen ein Tumorantigen bzw. ein davon abgeleitetes natürliches
25 oder synthetisches Peptid, in diesem Fall liegt die Vakzine als Tumorstoffvakzine vor.

Die Menge an wirksamem Antigen in der erfindungsgemäßen Vakzine kann über einen breiten Bereich variieren. Die Menge an Peptid hängt u.a. von der Verabreichungsart
30 und der jeweiligen Formulierung ab. Die zu

11.27.01.99

verabreichende Menge an Peptid kann ca. 0.1 µg bis ca. 5000 µg pro Vakzinierungsdosis betragen, im allgemeinen 1.0 µg bis ca. 1000 µg, insbesondere ca. 10 µg bis ca. 500 µg.

- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das Adjuvans eine Substanz, wie sie in der WO 97/30721, auf deren Offenbarung hiermit ausdrücklich Bezug genommen wird, als Zusatz für Protein- bzw. Peptidvakzine vorgeschlagen wurde, bevorzugt ein
- 10 Polykation, wie Polyarginin oder Polylysin, das gegebenenfalls modifiziert ist, z.B. mit einem Zuckerrest.

- Als Adjuvans kommen ferner grundsätzlich sämtliche der oben genannten, für Vakzinen auf Peptid- oder
- 15 Proteinbasis bekannte Adjuvantien in Betracht. Z.B. anorganische Adjuvantien in Gelform (Aluminiumhydroxid/Aluminiumphosphat, Warren et al., 1986; Calciumphosphat, Relyvelt, 1986); bakterielle Adjuvantien wie Monophosphoryllipid A (Ribi, 1984;
- 20 Baker et al., 1988) und Muramylpeptide (Ellouz et al., 1974; Allison und Byars, 1991; Waters et al., 1986); teilchenförmige Adjuvantien, wie die sog. ISCOMS („immunostimulatory complexes“, Mowat und Donachie, 1991; Takahashi et al., 1990; Thapar et al., 1991),
- 25 Liposomen (Mbawuike et al. 1990; Abraham, 1992; Phillips and Emili, 1992; Gregoriadis, 1990) und bioabbaubare Mikrosphären (Marx et al., 1993); Adjuvantien auf der Grundlage von Ölemulsionen und Emulgatoren, wie Freund's Adjuvans oder IFA
- 30 („Incomplete Freund's Adjuvans“ (Stuart-Harris, 1969; Warren et al., 1986), SAF (Allison and Byars, 1991),

05.10.23.14

Saponine (wie QS-21; Newman et al., 1992), Squalen/Squalan (Allison and Byars, 1991); synthetische Adjuvantien, wie nicht-ionische Block-Copolymere (Hunter et al., 1991), Muramylpeptidanalogue (Azuma, 1992), synthetisches Lipid A (Warren et al., 1986; Azuma, 1992), synthetische Polynukleotide (Harrington et al., 1978) und polykationische Adjuvantien (WO 97/30721).

Dem Fachmann kann anhand der oben genannten
10 Fachliteratur geeignete Antigen/Adjuvantienformulierungen definieren und, davon ausgehend, eine isotonische machende Substanz ermitteln, die geeignet ist, die Wirksamkeit der Formulierung zu steigern bzw., bei gleicher
15 Wirksamkeit, eine Verringerung des Adjuvansanteils in der Formulierung zu senken, was bei Adjuvantien mit Nebeneffekten einen entscheidenden Vorteil bietet.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde überraschend festgestellt, daß eine salzfreie, mit Sorbit isotonisch
20 gemachte Tumorstoffimpfung, enthaltend ein MHC-bindendes, von einem Tumorstoffantigen abgeleitetes Peptid sowie Polyarginin als Adjuvans, gegenüber einer hinsichtlich Peptid/Adjuvans identischen, herkömmlich formulierten, d.h. eine isotonische Salzkonzentration enthaltenden
25 Tumorstoffimpfung eine stärkere Antitumorstoffaktivität aufweist. Es wurde festgestellt, daß die Peptide zusammen mit dem Adjuvans in Sorbitlösung besser löslich sind als in herkömmlichem PBS Puffer. Ohne auf die Theorie festgelegt sein zu wollen, dürfte die verbesserte
30 Wirkung der Stoffimpfung, neben der verbesserten Löslichkeit, darauf zurückzuführen sein, daß die

M 27.01.99

10

Interaktion zwischen Peptid und Adjuvans erleichtert und damit die Wirkung des Adjuvans verstärkt wird. Gegebenfalls ist die verbesserte Wirkung der Vakzine außerdem auf eine Co-Adjuvans-Wirkung der isotonisch
5 machenden Substanz , z.B. Sorbit, zurückzuführen, d. h. diese Substanz (Sorbit) hat als solche eine gewisse Adjuvanswirkung, die die Wirkung des primären Adjuvans verstärkt.

Um eine Vakzine optimal zu formulieren, wird zweckmäßig
10 wie folgt vorgegangen: ausgehend von einem definierten Antigen, das die gewünschte Immunantwort hervorrufen soll, wird in einem ersten Schritt ein auf das Antigen abgestimmtes Adjuvans ermittelt, wie in der Fachliteratur, insbesondere in der WO 97/30721,
15 beschrieben. In einem nächsten Schritt wird die Vakzine dahingehend optimiert, daß der Antigen/Adjuvansmischung bei ansonsten identischer Zusammensetzung unterschiedliche isotonisch machende Substanzen im Sinne der Definition der vorliegenden Erfindungen,
20 bevorzugt Zucker und/oder Zuckeralkohole, in isotonischer bzw. leicht hypotonischer Konzentration zugesetzt werden und die Lösung auf einen physiologischen pH-Wert im Bereich von pH 4.0 bis 10.0, insbesondere 7.4, gebracht wird. Dann wird in einem
25 ersten Schritt, wie im Beispiel der vorliegenden Anmeldung beschrieben, festgestellt, welche Substanzen, bzw. in welcher Konzentration, die Löslichkeit der Antigen/Adjuvanszusammensetzung gegenüber einer herkömmlichen, salzgepufferten Lösung verbessern. Die
30 Verbesserung der Löslichkeitseigenschaften durch einen Substanz-Kandidaten ist ein erster Hinweis darauf, daß

05.10.99 M

14.27.01.99

11

diese Substanz eine Steigerung der immunogenen Wirkung der Vakzine hervorzurufen imstande ist.

- Da eine der möglichen Voraussetzungen für eine Steigerung der zellulären Immunantwort eine erhöhte
- 5 Bindung des Antigens an APCs (Antigen präsentierende Zellen) ist, kann in einem nächsten Schritt untersucht werden, ob die Substanz eine solche Steigerung hervorruft. Dazu kann analog vorgegangen werden wie bei der Definition des Adjuvans, z. B. indem APCs mit
- 10 fluoreszenzmarkiertem Peptid bzw. Protein, Adjuvans und isotonisch machende Substanz inkubiert werden. Eine durch die Substanz bewirkte erhöhte Aufnahme bzw. Bindung des Peptids an APCs kann durch Vergleich mit Zellen, die mit Peptid und Adjuvans allein bzw mit
- 15 einer Peptid/Adjuvanszusammensetzung, die in herkömmlicher Salzpufferlösung vorliegt, versetzt wurden, mittels Durchflußzytometrie bestimmt werden.

- In einem zweiten Schritt können die Substanz-Kandidaten *in vitro* daraufhin untersucht werden, ob und in welchem
- 20 Ausmaß ihre Gegenwart die Präsentation eines Peptids auf APCs zu steigern vermag, wobei nach den in der WO 97/30721 für die Testung von Peptiden beschriebenen Methoden die MHC-Konzentration auf den Zellen gemessen werden kann.

- 25 Eine weitere Möglichkeit zur Testung der Effizienz einer Formulierung ist die Verwendung eines *in vitro* Modellsystems. Hierbei werden APCs zusammen mit Adjuvans, Peptid und Kandidatensubstanz inkubiert und die relative Aktivierung eines T-Zellklons, der das

14.27.01.99

M 27.01.99

12

verwendete Peptid spezifisch erkennt, gemessen (Coligan et al., 1991; Lopez et al., 1993)

Die Effizienz der Formulierung kann gegebenenfalls auch über die zelluläre Immunantwort durch den Nachweis
5 einer "delayed-type hypersensitivity" (DTH)-Reaktion in immunisierten Tieren gezeigt werden.

Letztlich wird die immunmodulatorische Wirkung der Formulierung im Tierversuch gemessen. Im Falle einer Tumorstoffe, wie im vorliegenden Beispiel, können u.a.
10 etablierte Tumormodelle, bei denen von Immunzellen erkannte Peptidsequenzen bekannt sind, eingesetzt werden. Die Vakzine, enthaltend bei konstanter Peptid/Adjuvans-Zusammensetzung unterschiedliche Puffersubstanzen, wird den Versuchstieren appliziert.
15 Der Schutz vor Tumorstoffe ist ein Maß für die Wirksamkeit einer Tumorstoffe.

Beispiel

Die Versuche wurden durchgeführt, wie in der WO 97/30721 beschrieben.

20 a) DBA/2 Mäuse wurden mit einem Gemisch aus 100 µg MHC Klasse I bindendem Peptid SYFPETHI (Bezeichnung "P815 JAK1") und 75 µg Polyarginin (Polymerisationsgrad 70, SIGMA Chemicals, St. Louis MO) pro Tier dreimal in je einwöchigem Abstand geimpft. Die
25 Peptid/Adjuvantslösung wurde in Sorbitlösung (270 mM Sorbit, 5 mM HEPES) oder phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, GIBCO BRL) verabreicht. Kontrollmäuse erhielten entweder 100 µg Peptid/Tier ohne Adjuvants in Sorbitpuffer oder wurden nicht

06.10.23 14

M 27.01.99

13

vakziniert. Eine Woche nach der letzten Vakzinierung wurden 10^4 viable Tumorzellen injiziert und Tumorwachstum wöchentlich festgehalten.

Das Ergebnis der Versuche ist in Fig. 1 dargestellt.

- 5 Die Abbildung zeigt den Vergleich der Effizienz der P815 JAK1-Vakzine in Sorbitlösung gegen eine Vakzine in gepufferter, isotonischer Salzlösung im Tiermodell. Es zeigte sich, daß Tiere, die die Vakzine in Sorbitlösung erhielten, besser geschützt sind als Mäuse, die mit
- 10 Peptid/polyArginin in PBS geimpft wurden.

- b) Für die Löslichkeitsversuche wurden Gemische aus fluoreszenzmarkiertem Peptid LFEAIEGFI oder GYKDGNEYI hergestellt: 100 µg fluoreszenzmarkiertes Peptid wurde mit 75 µg Polyarginin (Arg; Polymerisationsgrad 70,
- 15 SIGMA Chemicals, St. Louis MO) entweder in Sorbitlösung oder HEPES-gepufferter Kochsalzlösung (HBS: 20 mM HEPES pH 7.5, 150 mM NaCl) versetzt. Nach drei Stunden wurde die Menge an gelöster Fluoreszenz durch Bestimmung der Extinktion bei 490 nm gemessen. Als Testprotein wurde
- 20 das Green Fluorescent Protein verwendet.

- Fig. 2 und Fig. 3 zeigen den Vergleich der Löslichkeit der Komplexe nach Mischung in gepufferter Salzlösung oder Sorbitlösung. Die beiden fluoreszenzmarkierten Peptide (Fig. 2A und Fig. 2B) und das Green Fluorescent
- 25 Protein (GFP; ca. 30 Kd; Fig. 3) wurden in diesen Versuch einbezogen. Durch Anmischung der Vakzine in Sorbitlösung ergab sich eine deutlich verbesserte Löslichkeit und Recovery (erhöhte Fluoreszenz) sowohl mit den beiden getesteten Peptiden als auch mit GFP.

AA 17.17.11

M 27.01.99

14

Literatur

- Abraham, E., 1992, Vaccine 10, 461-468
- 5 Allison, A.C., und Byars, N.E., 1991, Mol Immunol 28,
279-284
- Azuma, I., 1992, Vaccine 10, 1000-1004
- Baker, P.J., et al., 1988, Infect Immun 56, 3064-3066
- Coligan, J.E. et al., 1991, Current Protocols in
10 Immunology, Wiley, New York
- Ellouz, F., et al., 1974, Biochem Biophys Res Commun
59, 1317-1325
- Gupta, R.K. und Siber G.R., 1995, Vaccine 13, 1263-1276
- Gregoriadis, G., 1990, Immunol Today 11, 89-97
- 15 Harrington, D.G., et al., 1978, Infect Immun 24,
160-166
- Hunter, R., et al., 1991, Vaccine 9, 250-255
- Lopez, J.A., et al., 1993, Eur. J. Immunol. 23, 217-223
- Marx, P.A., et al., 1993, Science 28, 1323-1327
- 20 Mbawuike, I.N., et al., 1990, Vaccine 8, 347-352
- Mowat, A.M., und Donachie, A.M., 1991, Immunol Today
12, 383-385

06.10.23 M

M 27.01.99

15

- Newman, M.J., et al., 1992, J Immunol 148, 2357-2362
- Phillips, N.C. und Emili, A, 1992, Vaccine 10, 151-158
- Rammensee, H.G., et al., 1995, Immunogenetics 41,
178-228
- 5 Relyvelt, E.H., 1986, Develop Biol Standard, 65,
131-136
- Ribi, E., 1984, J Biol Res Mod, 3, 1-9
- Stuart-Harris, C.H., 1969, Bull WHO 41, 617-621
- Takahashi, H., et al., 1990, Nature 344, 873-875
- 10 Thapar, M.A., et al., 1991, Vaccine 9, 129-133
- Vogel, F. R. 1995, Ann N Y Acad Sci 754, 153-160
- Warren, H.S., et al., 1986, Ann Rev Immunol 4, 369-388
- Waters, R.V., et al., 1986, Infect Immun 52, 816-825

66.10.12 W

M 27.01.99

16

Patentansprüche

1. Vakzine, enthaltend ein oder mehrere synthetische
oder hochgereinigte natürliche Peptide oder
5 Proteine als Antigen(e) sowie ein oder mehrere
Adjuvantien, dadurch gekennzeichnet, daß sie als
Lösung bzw. Emulsion vorliegt, die frei von
anorganischen Salzionen ist bzw. eine niedrige
Salzionenkonzentration aufweist.
- 10 2. Vakzine nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
daß sie im wesentlichen frei von Natrium- und
Chloridionen ist.
3. Vakzine nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
daß sie im wesentlichen frei von sämtlichen
15 anorganischen Salzionen ist.
4. Vakzine nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß sie eine oder mehrere
wasserlösliche bzw. wasseremulgierbare Substanzen
enthält, die die Fähigkeit haben, die Vakzine
20 isotonisch zu machen und deren immunogene Wirkung
zu verstärken.
5. Vakzine nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet,
daß die isotonisch machende Substanz ausgewählt
ist aus der Gruppe Kohlenhydrate, mehrwertige
25 Alkohole, Aminosäuren oder Lipide.
6. Vakzine nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet,
daß die isotonisch machende Substanz ein Zucker
ist.

05.10.23 14

M 27.01.99

17

7. Vakzine nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet,
daß die isotonisch machende Substanz ein
Zuckeralkohol ist.
- 5 8. Vakzine nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet,
daß der Zuckeralkohol Sorbit ist.
9. Vakzine nach einem der Ansprüche 4 bis 8, dadurch
gekennzeichnet, daß die isotonisch machende
Substanz in einer Konzentration vorliegt, so daß
die resultierende Lösung isotonisch oder leicht
10 hypotonisch ist.
10. Vakzine nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet,
daß die Zucker- bzw. Zuckeralkoholkonzentrationen
liegen im Bereich von ca. 200 - 400 mM liegt.
11. Vakzine nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet,
15 daß die Konzentration 250 - 300 mM beträgt.
12. Vakzine nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch
gekennzeichnet, daß sie zusätzlich einen Puffer
enthält.
13. Vakzine nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch
20 gekennzeichnet, daß sie als Antigen ein Peptid
enthält.
14. Vakzine nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet,
daß das Peptid von einem Tumorantigen abgeleitet
ist.
- 25 15. Vakzine nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch
gekennzeichnet, daß sie als Adjuvans ein
Polykation enthält.

AA 17.17.14

M 27.01.99

18

16. Vakzine nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet,
daß sie als Adjuvans Polyarginin enthält.

88.10.23 N

Zusammenfassung

5

Eine Vakzine, enthaltend ein oder mehrere synthetische oder hochgereinigte natürliche Peptide oder Proteine als Antigen(e) sowie ein oder mehrere Adjuvantien liegt als Lösung bzw. Emulsion vor, die frei ist von

10 anorganischen Salzionen bzw. eine niedrige Salzionenkonzentration aufweist. Bevorzugt enthält sie Substanzen mit der Fähigkeit, die Vakzine isotonisch zu machen, insbesondere Sorbit.

RA 10 17 14

N 27.10.89

Fig. 1

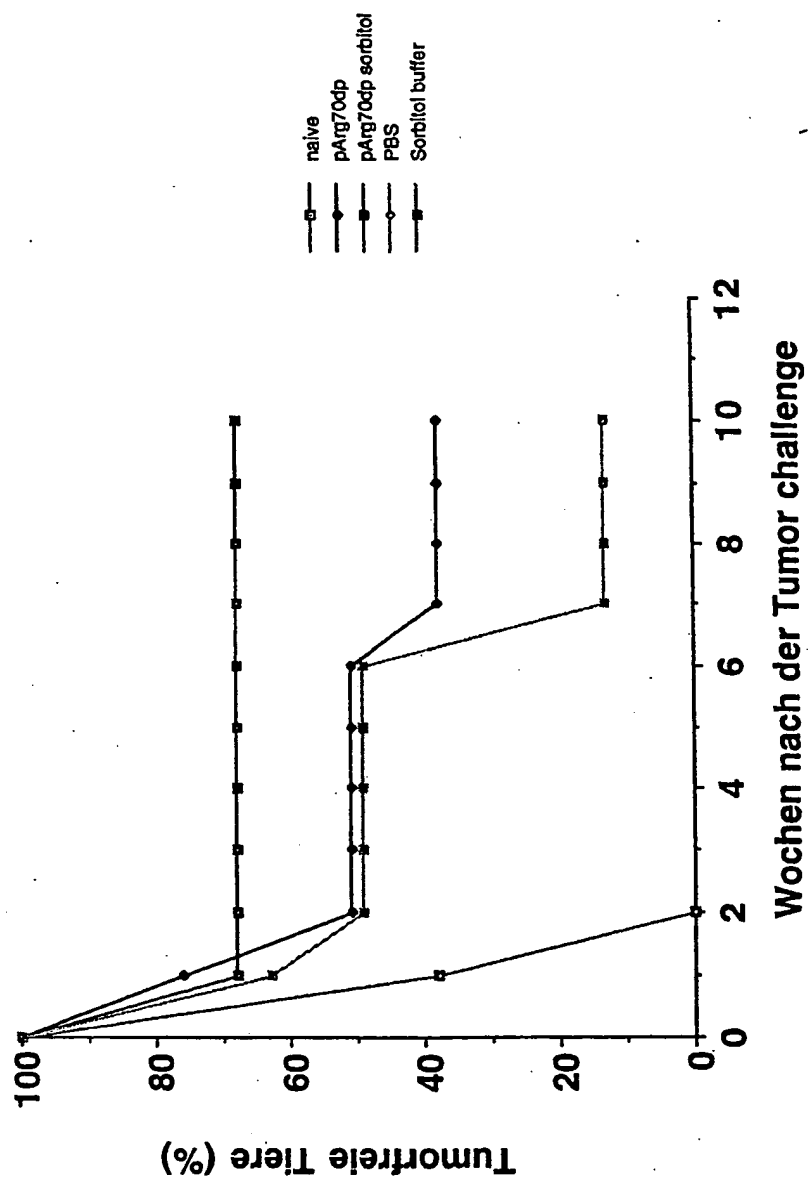
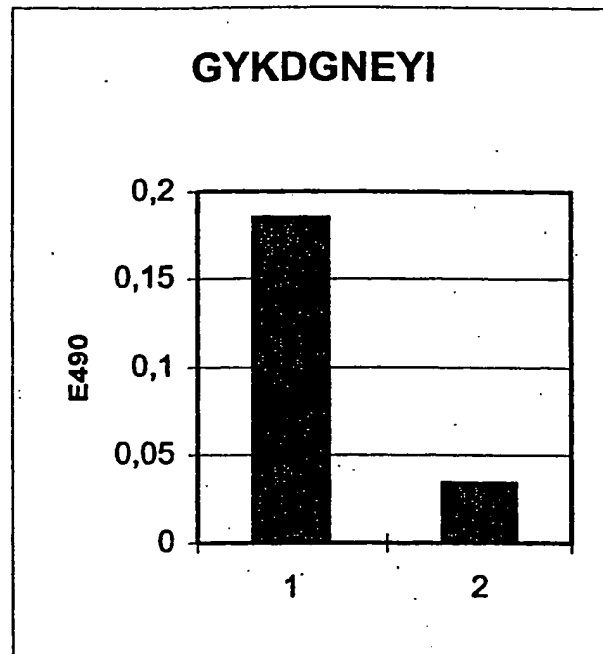
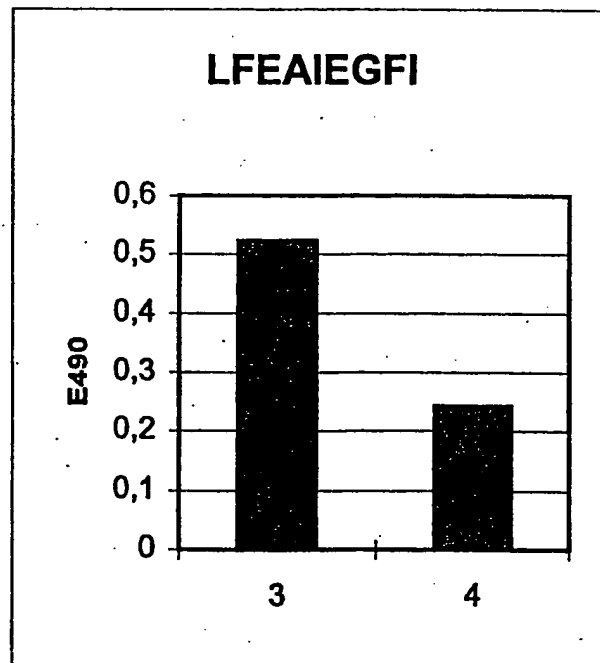


Fig. 2

A

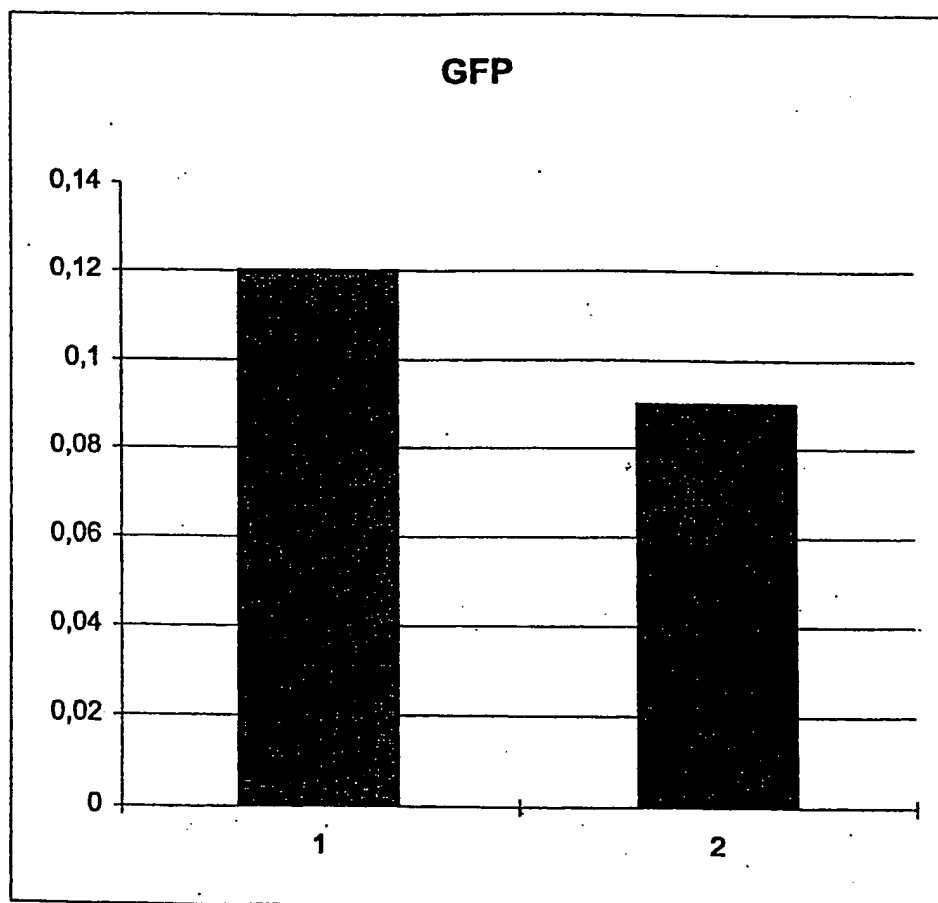


B



AA-TYXU

Fig. 3



88-10-22 N